SNI

Standar Nasional Indonesia

SNI 7545.3:2009

Metode identifikasi bakteri pada ikan secara konvensional – Bagian 3: *Streptococcus iniae* dan *Streptococcus agalactiae*

ICS 65.150

Badan Standardisasi Nasional

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang menyalin atau menggandakan sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun dan dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Gd. Manggala Wanabakti
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.
Telp. +6221-5747043
Fax. +6221-5747045
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi i
Prakata ii
1 Ruang lingkup 1
2 Istilah dan definisi 1
3 Prinsip 2
4 Peralatan 2
5 Bahan 3
6 Prosedur 3
7 Pelaporan 6
8 Keamanan dan Keselamatan kerja 6
Lampiran A (normatif) Pembuatan media 7
Lampiran B (normatif) Pembuatan pereaksi 10
Bibliografi 12

Tabel 1 - Karakteristik bakteri *Streptococcus iniae* dan *Streptococcus agalactiae* 6

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

Prakata

Dalam rangka keberlanjutan usaha budidaya, meningkatkan produktivitas dan jaminan mutu komoditas perikanan serta memberikan hasil uji yang akurat bagi setiap pengujian laboratorium uji, maka perlu disusun suatu Standar Nasional Indonesia (SNI) tentang metode identifikasi bakteri *Streptococcus iniae* dan *Streptococcus agalactiae* pada ikan secara konvensional.

Standar ini dirumuskan oleh Subpanitia Teknis 65-05-S2 Perikanan Budidaya dan telah dibahas dalam rapat-rapat teknis dan terakhir disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 25 Agustus 2008 di Bogor dengan memperhatikan:

1 Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.01/Men/2002 tentang Sistem Manajemen Mutu Terpadu Hasil Perikanan.
2 Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.06/Men/2002 tentang Persyaratan dan Tata Cara Pemeriksaan Mutu Hasil Perikanan yang Masuk ke wilayah Republik Indonesia.
3 Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.21/Men/2004 tentang Sistem Pengawasan dan pengendalian Mutu Hasil Perikanan untuk Pasar Uni Eropa.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 2 April 2009 sampai dengan 2 Juni 2009 dengan hasil akhir RASNI.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

Metode identifikasi bakteri pada ikan secara konvensional – Bagian 3: *Streptococcus iniae* dan *Streptococcus agalactiae*

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan metode identifikasi bakteri *Streptococcus iniae* dan *Streptococcus agalactiae* pada ikan secara konvensional.

2 Istilah dan definisi

2.1
***Gram* positif**
hasil pewarnaan *Gram* yang ditandai dengan sel bakteri yang berwarna ungu

2.2
ikan besar
ikan yang sudah dapat dibedakan organ dalamnya secara makroskopis

2.3
ikan kecil
ikan yang tidak dapat dibedakan organ dalamnya secara makroskopis

2.4
inkubasi
pengkondisian lingkungan untuk tumbuh dan berkembangbiak sehingga bakteri dapat tumbuh dan menunjukkan karakteristik sesuai dengan yang dikehendaki

2.5
inokulasi
menumbuhkan bakteri dari satu media ke media lain

2.6
isolasi
pemisahan bakteri dari organ target ikan dengan menumbuhkan pada media agar

2.7
isolat murni
bakteri hasil pemurnian dari koloni yang terisolir

2.8
media
formulasi bahan yang digunakan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri

2.9
media agar
media padat yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme

2.10
media selektif
formulasi bahan yang digunakan untuk mengisolasi dan menumbuhkan bakteri tertentu

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

2.11
media semi solid
formulasi bahan yang digunakan untuk melihat pertumbuhan dan/atau motilitas dari bakteri yang diisolasi

2.12
metode konvensional
penentuan bakteri melalui uji fisika, uji morfologi dan uji biokimia

2.13
mikroorganisma
organisma yang berukuran kecil dan hanya dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop

2.14
organ target
organ yang menjadi sasaran serangan bakteri

2.15
pewarnaan *Gram*
uji untuk membedakan sifat dinding sel bakteri

2.16
Streptococcus
merupakan salah satu bakteri berbentuk bulat gram positif dengan koloni mikroskopis berantai

2.17
uji morfologi sel
uji yang dilakukan untuk mengetahui ukuran dan bentuk bakteri dengan menggunakan mikroskop

2.18
uji fisika
uji yang dilakukan untuk melihat ketahanan bakteri terhadap kondisi tertentu

2.19
uji biokimia
uji yang dilakukan dengan menggunakan bahan - bahan kimia

3 Prinsip

Mengisolasi dan memurnikan bakteri pada media selektif KF agar atau media *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA), selanjutnya diidentifikasi secara morfologi, uji fisika, dan uji biokimia.

4 Peralatan

a) *autoclave*;
b) botol semprot;
c) *Bunsen burner*;
d) cawan petri;
e) gelas objek;
f) *hot plate & magnetic stirrer*;
g) inkubator;
h) jarum *Őse*;

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

i) labu *erlenmeyer*;
j) meja bedah;
k) mikroskop;
l) *mortar* dan *grinder*;
m) *oven*;
n) peralatan bedah;
o) pipet tetes;
p) pipet berskala;
q) rak tabung reaksi;
r) tabung reaksi;
s) timbangan analitik (ketelitian 0,01 g);
t) *uv laminarflow-hood (biological safety cabinet)*;
u) *vortex mixer*.

5 Bahan

a) *aesculin broth*;
b) akuades;
c) alkohol 70 %;
d) *bile* agar *plate*;
e) *blood* agar/ agar darah;
f) *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA);
g) *filter paper* dan/atau *stik* untuk *sitochrom oksidase*;
h) *mannitol* agar;
i) media KF;
j) medium O/F basal;
k) media SIM atau media MIO;
l) media TSA yang mengandung NaCl 6,5 %;
m) minyak imersi;
n) parafilm;
o) parafin cair;
p) pereaksi *sitochrom oksidase*;
q) pereaksi katalase H_2O_2 3 %;
r) pereaksi pewarnaan *Gram*;
s) *phenol red broth base* media;
t) *Tryphenyltetrazolium chloride* (TTC) *solution* 1 %;
u) vaseline.

CATATAN: pembuatan media diuraikan dalam Lampiran A dan pembuatan pereaksi diuraikan dalam Lampiran B.

6 Prosedur

6.1 Preparasi contoh

Ikan besar

- Bersihkan permukaan tubuh ikan dengan kapas yang telah dibasahi alkohol 70 %.
- Bedah ikan dengan menggunakan peralatan bedah steril.
- Secara aseptis, tusuk dengan jarum *Őse* organ target (cairan otak, hati, ginjal, limpa dan darah serta luka tubuh). Ikan yang dikehendaki tetap hidup (*non lethal sampling*), isolat diambil dari darah dan luka tubuh. Darah diambil dengan menggunakan alat suntik steril, kemudian siap dilakukan isolasi.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Ikan kecil atau telur

- Ambil contoh dibilas dengan menggunakan akuades steril minimal 3 kali, kemudian contoh digerus, siap untuk diisolasi.

6.2 Isolasi bakteri

a) Bersihkan permukaan meja kerja dengan alkohol 70 %.
b) Secara aseptis, tusuk organ target menggunakan jarum *Őse,* kemudian goreskan ke media BHIA atau media KF.
c) Secara aseptis, hasil gerusan ikan kecil atau telur diambil dengan jarum *Őse* kemudian goreskan ke media BHIA atau media KF.
d) Secara aseptis, teteskan darah di atas media BHIA atau media KF kemudian digoreskan menggunakan jarum *Őse*.
e) Segel cawan petri yang berisi biakan bakteri dengan parafilm.
f) Inkubasikan biakan bakteri pada suhu 28 °C selama 12 jam - 24 jam.
g) Pada media BHIA, bakteri diduga *Streptococcus iniae* dan *S. agalactiae* apabila setelah diisolasi akan tumbuh koloni halus berwarna transparan sedangkan pada media KF, akan membentuk koloni berwarna coklat.

6.3 Pemurnian bakteri

a) Ambil koloni yang tumbuh terpisah di dalam goresan yang diduga *Streptococcus iniae* dan *S. agalactiae* untuk selanjutnya dimurnikan dalam media BHIA.
b) Inkubasikan pada suhu 25 °C - 30 °C selama 12 jam - 24 jam.
c) Apabila hasil pemurniannya diperoleh koloni yang seragam maka diteruskan dengan uji lanjutan.

6.4 Tahap analisis

6.4.1 Pewarnaan *Gram*

a) Siapkan gelas objek yang telah dibersihkan dari lemak dengan alkohol 70 % dan diberi label.
b) Teteskan 1 tetes akuades steril pada permukaan gelas objek.
c) Ambil isolat dengan jarum *Őse steril*, campur dengan akuades dan diulas merata pada permukaan gelas objek.
d) Fiksasikan dengan melewatkan preparat di atas api (jarak 15 cm) beberapa kali sampai terlihat kering.
e) Teteskan larutan *crystal violet* pada preparat sampai merata dan diamkan selama 1 menit.
f) Cuci dengan air mengalir.
g) Teteskan larutan *iodine lugol* pada preparat sampai merata, dan diamkan selama 1 menit.
h) Cuci preparat dengan air mengalir dan dikeringanginkan.
i) Teteskan larutan alkohol *aseton* pada preparat sampai merata dan diamkan maksimal 30 detik.
j) Cuci preparat dengan air mengalir dan dikeringanginkan.
k) Teteskan larutan *safranin* pada preparat sampai merata dan diamkan selama 2 menit.
l) Cuci preparat dengan air mengalir dan dikeringanginkan.
m) Amati preparat menggunakan mikroskop.
n) Sifat bakteri *Gram* positif ditandai dengan sel bakteri berwarna ungu.
o) Sifat bakteri *Gram* negatif ditandai dengan sel bakteri berwarna merah.

6.4.2 Uji motilitas dengan media semi solid

a) Ambil isolat dengan jarum *Őse* lurus dan inokulasikan dengan menusukkan pada media semi solid (SIM atau MIO).
b) Inkubasikan pada suhu 28 °C selama 12 jam - 24 jam.

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

c) Reaksi positif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar dan reaksi negatif ditandai pertumbuhan bakteri yang tidak menyebar.

6.4.3 Uji sitochrom oksidase

a) Basahi kertas saring dengan pereaksi *oksidase*.
b) Ambil 1 *loop* isolat bakteri dengan jarum *Őse* (Őse *platinum* atau Őse *plastic disposable*), goreskan pada kertas saring yang sudah diberi pereaksi *oksidase* atau gunakan stik *oksidase*.
c) Reaksi negatif jika tidak ada perubahan warna pada kertas saring dan positif jika terjadi perubahan warna biru keunguan pada goresan dalam waktu singkat.

6.4.4 Uji Oksidatif-Fermentatif

a) Siapkan 2 tabung berisi media O/F basal.
b) Ambil isolat bakteri dengan jarum *Őse* lurus steril.
c) Inokulasikan isolat bakteri ke dalam tabung yang berisi media O/F basal dengan cara ditusukkan.
d) Satu tabung diisi dengan parafin cair steril hingga ketinggian 1 cm di atas permukaan media O/F basal, sedangkan tabung lainnya tanpa parafin cair.
e) Inkubasikan pada suhu 25 °C - 30 °C selama 12 jam - 24 jam.
f) Reaksi negatif jika tidak ada perubahan warna pada kedua tabung reaksi.
g) Reaksi oksidatif positif jika terjadi perubahan warna media pada tabung tanpa parafin dari hijau ke kuning.
h) Reaksi fermentatif positif jika terjadi perubahan warna dari hijau ke kuning pada tabung yang tertutup parafin.

6.4.5 Uji katalase

a) Secara aseptis, ambil biakan bakteri dengan jarum *Őse,* oleskan pada gelas objek kemudian tambahkan 1 tetes larutan H_2O_2 3 %.
b) Bakteri bersifat katalase positif bila menghasilkan gelembung udara dalam waktu kurang dari 10 detik.

6.4.6 Uji *bile salt* 40 %

a) Ambil isolat bakteri menggunakan jarum *Őse*.
b) Inokulasikan isolat bakteri ke dalam *bile* agar *plate*.
c) Inkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam - 48 jam.
d) Amati pertumbuhan bakteri dalam media.
e) Reaksi positif apabila tumbuh pada media dan reaksi negatif apabila tidak tumbuh pada media.

6.4.7 Uji pertumbuhan dalam NaCl 6,5 %

a) Ambil isolat bakteri menggunakan jarum *Őse*.
b) Inokulasikan isolat bakteri ke dalam TSA yang telah ditambah NaCl 6,5 %.
c) Inkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam - 48 jam.
d) Reaksi positif apabila tumbuh pada media dan reaksi negatif apabila tidak tumbuh pada media.

6.4.8 Uji *haemolisis*

a) Inokulasikan isolat bakteri ke dalam *blood agar* dengan metode *platting*.
b) Inkubasikan pada suhu 25 °C - 30 °C selama 24 jam.
c) Amati daerah yang terbentuk di sekitar koloni yang tumbuh.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

d) Reaksi positif alpha *haemolisis* jika terdapat zona kehijau-hijauan disekitar daerah koloni reaksi positif betha *haemolisis* jika terdapat zona bening disekitar daerah koloni.
e) Reaksi negatif apabila tidak terjadi zona warna disekitar daerah koloni.

6.4.9 Uji aesculin hydrolisis

a) Inokulasikan isolat bakteri ke dalam *aesculin broth*.
b) Inkubasi pada suhu 25 °C - 30 °C selama 24 jam - 48 jam.
c) Reaksi positif ditandai dengan warna hitam.

6.4.10 Uji produksi asam dari *D-mannitol*

a) Ambil isolat dengan jarum *Őse* dan inokulasikan ke dalam media *phenol red broth base* yang sudah ditambahkan dengan *D-mannitol*.
b) Inkubasikan pada suhu 25 °C - 30 °C selama 12 jam - 24 jam.
c) Reaksi positif jika terbentuk warna kuning pada agar dan negatif bila tidak terjadi perubahan warna.

7 Pelaporan

Bakteri dinyatakan sebagai *Streptococcus iniae* dan *Streptococcus agalactiae* apabila memenuhi karakteristik seperti pada Tabel 1.

Tabel 1 Karakteristik bakteri *Streptococcus iniae* dan *S. agalactiae*

No	Test	Karakteristik	
		S. iniae	***S.agalactiae***
1	Pewarnaan *Gram*	*Gram* positif	*Gram* positif
2	Motilitas	Negatif	Negatif
3	Oksidase	Negatif	Negatif
4	Oksidatif-Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif
5	Katalase	Negatif	Negatif
6	*Bile salt* 40 %	Negatif	Positif
7	Pertumbuhan dalam NaCl 6,5 %	Negatif	Positif
8	*Haemolisis*	Alpha *haemolisis* dan/atau beta *haemolisis*	Beta *haemolisis*
9	*Aesculin hydrolisis*	Positif	Negatif
10	Asam dari *D-mannitol*	Positif	Negatif

8 Keamanan dan Keselamatan kerja

a) Cuci tangan sebelum dan sesudah melakukan analisis.
b) Gunakan jas laboratorium selama melakukan analisis.
c) Bersihkan meja kerja sebelum dan sesudah melakukan analisis.
d) Bersihkan segera contoh yang tercecer dan mengandung bakteri menggunakan bahan desinfektan.
e) Media yang sudah digunakan disterilkan terlebih dahulu sebelum dibuang.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Lampiran A
(normatif)
Pembuatan media

A.1 *Brain Heart Infusion* Agar (BHIA)

Bahan:

BHIA komersial

Cara membuat:

a) Larutkan 52 gram BHIA dalam 1 liter akuades.
b) Panaskan hingga mendidih kemudian disterilkan pada suhu 121 °C selama 15 menit.

A.2 Media *O-F basal*

Bahan:

Peptone	2 g
NaCl	5 g
K_2HPO_4	0,3 g
Agar	3 g
Akuades	1000 ml
Bromthimol blue	0,2 %
Aqua solution	15 ml

Cara membuat:

a) Panaskan semua bahan sambil diaduk.
b) Tambahkan larutan indikator dan sterilisasi pada suhu 115 °C selama 20 menit.
c) Tambahkan 1 % larutan karbohidrat steril (*glukose*).
d) Campurkan dan tuang 1,5 ml kedalam tabung reaksi, pH akhir 7,1.

A.3 Media *Tripticase Soya Agar* (TSA)

Bahan:

TSA	40 g
Akuades	1000 ml

Cara membuat:

a) Timbang TSA sebanyak 40 gram.
b) Tambahkan 1000 ml akuades dalam *erlenmeyer* yang diberi *magnetic stirer*.
c) Panaskan di atas *hot plate,* tidak sampai mendidih.
d) Sterilkan dengan *autoclave* 121 °C selama 15 menit.
e) Bagi dalam cawan petri/*petridish* lalu simpan.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

A.4 KF *Streptococcus* agar *base*

A.4.1 Agar *base*

Bahan:

Protease peptone	10 g/l
Yeast extract	10 g/l
Sodium chlorida	5 g/l
Sodium glycerophosphate	10 g/l
Maltose	20 g/l
Lactose	1 g/l
Sodium azide	0.4 g/l
Bromo-cresol purple	0.015 g/l
Agar	20 g/l

pH 7.2 ±0.2

A.4.2 *Tryphenyltetrazolium Chloride* (TTC) *solution* (1 %)

Vial berisi: 2,3,5-*Tryphenyltetrazolium chloride* (1 %)
Setiap vial untuk membuat 500 ml media

Cara membuat:

a) Larutkan 38.2 g agar *base* ke dalam 500 ml akuades.
b) Didihkan selama 5 menit dengan suhu 5 °C.
c) Tambahkan secara akseptis 1 botol kecil (5 ml) 2,3,5-*Triphenyltetrazolium chloride* (1 %).
d) Bagi kedalam cawan petri/*petridisk* lalu simpan.

A.5 Media *Sulphide-Indole-Motility* (SIM)

Bahan:

Meat extract	3 g
Tryptone	30 g
$Na_2S_2O_3.5H_2O$	0,5 g
Cysteine hydrochloride	0,2 g
NaCl	5 g
Agar	5 g
Akuades	1 l

Cara membuat:

a) Panaskan sambil diaduk dan didihkan selama 1 menit - 2 menit semua bahan.
b) Tuang pada tabung reaksi atau *tube* dan sterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit.

A.6 Media *Motility Indol Orthinin* (MIO)

Bahan:

Agar MIO	31 g
Akuades	1000 ml

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Cara membuat:

a) Masukkan MIO ke dalam labu *erlenmeyer* menggunakan *stirer magnetic* dan tambahkan 1000 ml air.
b) Panaskan di dekat *hot plate* hingga mendidih.
c) Sterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit.
d) Bagi ke dalam tabung reaksi yang sudah steril.

A.7 Media *blood* agar *base* (agar darah)

Bahan:

Blood agar *base*	40 g
Akuades	1000 ml
Defribinated blood	3 % - 8 %

Cara membuat:

a) Larutkan *blood* agar *base*, sterilkan pada suhu 121 °C selama 15 menit.
b) Setelah suhu larutan ± 50 °C tambahkan *defribinated blood* 3 % - 8 %.
c) Aduk perlahan (jangan sampai ada gelembung udara).
d) Distribusikan ke dalam cawan petri.

A.8 *Aesculin broth*

Bahan:

Aesculin	1 g
Ferric citrate	0,5 g
Peptone water	1000 ml

Cara membuat:

a) Larutkan *esculin* dan *ferric citrate* di *peptone water*.
b) Sterilisasikan dalam *autoclave* 115 °C selama 10 menit.
c) Simpan di tempat gelap.

A.9 *Bile Salt* 40 %

Bahan:

Ox bile, dehydrated	40 g
Serum, steril	50 ml
Nutrien Agar	1000 ml

Cara membuat:

a) Nutrien agar ditambah Ox *bile* dicampur dan dilarutkan.
b) Sterilisasi pada suhu 115 °C selama 25 menit.
c) Dinginkan pada suhu 55 °C.
d) Tambahkan serum secara aseptis.
e) Distribusikan ke dalam *plate*.

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Lampiran B
(normatif)
Pembuatan pereaksi

B.1 Pereaksi pewarna *Gram*

B.1.1 Larutan *crystal violet*

Bahan:

Crystal violet	2,0 g
Ethanol	20,0 ml
Ammonium oxalat	0,8 g
Akuades	80 ml

Cara membuat:

a) *Crystal violet* dilarutkan dalam *ethanol*.
b) *Ammonium oxalat* dilarutkan dalam akuades.
c) Campurkan kedua larutan dan diamkan selama 24 jam, kemudian lakukan penyaringan.

B.1.2 Larutan *iodine*

Bahan:

Iodine	1 g
Potassium iodide	2 g
Akuades	300 ml

Cara membuat:

a) *Potassium iodide* dilarutkan dalam 20 ml akuades.
b) Tambahkan *iodine* dan dibiarkan semalam.
c) Tambahkan sisa akuades.

B.1.3 Larutan penjernih

Bahan:

Ethanol	95 ml
Acetone	5 ml

Cara membuat:

Campurkan *ethanol* dan *acetone*.

B.1.4 Larutan safranin

Bahan:

Safranin	0,25 g
Ethanol (95 %)	10 ml
Akuades	90 ml

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Cara membuat:

Safranin dilarutkan dalam ethanol dan tambahkan akuades

B.2 Pereaksi uji *sitachrom oksidase*

Bahan:

Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride	1 ml
Akuades	99 ml

Cara membuat:

Larutkan *tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride* kedalam akuades

B.3 Pereaksi katalase

Bahan:

H_2O_2	3 ml
Akuades	97 ml

Cara membuat:

Larutkan H_2O_2 dalam akuades.

B.4 Pereaksi asam dari *manitol*

Bahan:

D (-) *mannitol*	5 g/l - 10 g/l
Phenol - red broth base media	

Cara membuat:

a) Larutkan *phenol red broth base* media dalam akuades, dapat pula ditambahkan agar 0,5 g/l - 1,0 g/l jika menginginkan media tersebut dalam bentuk agar.
b) Sterilisasi dengan *autoclave* suhu 121 °C selama 15 menit.
c) Setelah suhu kurang lebih 60 °C tambahkan 5 g/l - 10 g/l *manitol*.
d) Distribusikan ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung *durham*.
e) Simpan dalam *refrigerator*.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Bibliografi

Association of Official Analytical Chemistry (AOAC), 1996. Official Methods of Analysis, 16th.

Official Chemical Method, 1979, *Fish Inspection Branch Fisheries and Ocean Canada*.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

“Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

“Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

“Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

BADAN STANDARDISASI NASIONAL - BSN
Gedung Manggala Wanabakti Blok IV Lt. 3-4
Jl. Jend. Gatot Subroto, Senayan Jakarta 10270
Telp: 021- 574 7043; Faks: 021- 5747045; e-mail : bsn@bsn.go.id

© BSN 2009